

**UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS**

**FACULTAD DE FARMACIA Y BIO QUÍMICA**

**E.A.P. DE FARMACOLOGÍA, BROMATOLOGÍA Y TOXICOLOGÍA**

**Determinación analítica de GHB (Gamma  
Hidroxibutirato) en líquidos biológicos por HPLC Y  
CCF**

**TESIS**

para optar el Título Profesional de Químico Farmacéutico

**AUTOR**

Quicaña Espinoza, Dennis Gino

Sotelo Novoa, Luis Alberto

**ASESOR**

Jesús V. Lizano Gutierrez

**Lima – Perú**

**2005**



..	1
<b>RESUMEN .</b>	<b>3</b>
<b>SUMMARY . .</b>	<b>5</b>
<b>I. INTRODUCCIÓN . .</b>	<b>7</b>
<b>II. GENERALIDADES .</b>	<b>9</b>
<b>2.1 HISTORIA . .</b>	<b>9</b>
<b>2.2. USOS DEL GHB .</b>	<b>10</b>
<b>2.3 PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS . .</b>	<b>11</b>
<b>2.4 TOXICOCINÉTICA .</b>	<b>11</b>
<b>2.4.1 Absorción .</b>	<b>11</b>
<b>2.4.2. Distribución .</b>	<b>11</b>
<b>2.4.3. Metabolismo . .</b>	<b>11</b>
<b>2.4.4. Eliminación . .</b>	<b>12</b>
<b>2.5. EFECTOS CLÍNICOS .</b>	<b>12</b>
<b>2.6. RANGO DE TOXICIDAD . .</b>	<b>13</b>
<b>2.7. ADMINISTRACIÓN TERAPÉUTICAS . .</b>	<b>13</b>
<b>2.8. SOBREDOSIS CON GHB . .</b>	<b>14</b>
<b>2.9 TRATAMIENTO DE LA SOBREDOSIS CON GHB . .</b>	<b>14</b>
<b>2.10 NIVELES DE GHB POST-MORTEM .</b>	<b>15</b>
<b>2.11. ASPECTOS LEGALES: .</b>	<b>15</b>
<b>III. MATERIALES Y MÉTODOS . .</b>	<b>17</b>
<b>3.1. MUESTRAS . .</b>	<b>17</b>
<b>3.2 .OBTENCIÓN DE GHB POR SÍNTESIS A PARTIR DE GAMMA BUTIROLACTONA. 51,52,53.54 . .</b>	<b>17</b>
<b>3.3. DETERMINACIÓN DE GHB POR CCF. .</b>	<b>18</b>
<b>3.3.1. Reactivos. . .</b>	<b>18</b>
<b>3.3.2. Selección de los sistemas de solventes. .</b>	<b>18</b>

3.3.3. Selección de reveladores químicos. <sup>55</sup> .	18
3.4. DETERMINACIÓN DE GHB EN ORINA. .	19
3.4.1. Determinación del solvente orgánico de extracción en orina. .	19
3.4.2. Obtención de los extractos orgánicos de orina. . .	19
3.5. TÉCNICA ANALÍTICA PARA LA DETERMINACIÓN DE GHB EN ORINA POR CCF. . .	20
3.6. DETERMINACIÓN DE GHB POR HPLC. . .	20
3.6.1 Reactivos. .	20
3.6.2. Aparato. .	20
3.6.3. Preparación de la muestra. <sup>46</sup> .	20
3.6.4. Condiciones cromatográficas. . .	21
3.7 FLUJOGRAMA . .	21
3.8. APLICACIÓN DE LA TÉCNICA ANALÍTICA PARA DETERMINAR GHB EN ORINA DE PERSONAS SOMETIDAS A UN EXAMEN TOXICOLOGICO POR LA DIRECCIÓN DE CRIMINALÍSTICA DE LA POLICÍA NACIONAL DEL PERÚ (DIRCRI). .	21
3.9. ENCUESTA .	22
IV. RESULTADOS .	23
4.1 RESULTADOS DE LA DETERMINACIÓN ANALÍTICA DE GHB. .	23
4.2 RESULTADOS DE LA ENCUESTA EN 50 PERSONAS EVALUADAS TOXICOLÓGICAMENTE POR LA DIRECCIÓN DE CRIMINALÍSTICA DE LA POLICÍA NACIONAL DEL PERÚ (DIRCRI). . .	29
V. DISCUSIÓN . .	35
CONCLUSIONES . .	37
RECOMENDACIONES .	39
BIBLIOGRAFÍA .	41
ANEXO 1 .	45

---

*DEDICATORIA Dedico este trabajo a Dios, a mis padres porque sin su apoyo no lo hubiera logrado. A la Facultad de Farmacia y Bioquímica dela UNMSM y a nuestro asesor el Dr.Jesús Lizano por su apoyo en todo momento. Dennis Gino Quicaña Espinoza Dedisco este trabajo a mis padres y hermanos que con su amor y apoyo incondicional hicieron posible lo que hasta ahora he logrado. A la Facultad de Farmacia y Bioquímica dela UNMSM y al los profesores del departamento de toxicología Luis Alberto Sotelo Novoa*



## RESUMEN

El presente estudio desarrolla una técnica analítica para determinar gamma hidroxibutirato (GHB) en líquidos biológicos. Esto es debido a que esta sustancia viene siendo utilizada como una droga de abuso, así como para cometer actos delincuenciales en nuestro país. De esta manera se logra un aporte significativo al análisis químico-toxicológico en el Perú, ya que no existen estudios previos en nuestro medio. Esta técnica permitirá determinar la presencia del GHB por CCF y HPLC; lo cual facilitará a los laboratorios de instituciones como la Policía y el Ministerio Público a mejorar su labor al tener la certeza de su identificación en líquidos biológicos y vísceras. Se buscó la determinación de GHB por CCF por ser esta una técnica analítica común, sencilla y de fácil aplicación en cualquier laboratorio de toxicología; se evaluaron los mejores solventes de separación, reactivos reveladores generales y también los específicos. Además, se determinó el GHB por HPLC empleándose la columna XTerra MS C<sub>18</sub> y un MS ESI-UV como sistema de detección. Finalmente, se aplicó la metodología analítica en orinas de personas que fueron llevadas a la DIRCRI para un examen toxicológico.

**PALABRAS CLAVES :** Gamma hidroxibutirato (GHB), Cromatografía en Capa Fina (CCF), Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC).





## SUMMARY

This study reports the development of an analytical technique for the determination of gamma hydroxybutyrate (GHB) in biological fluids. This fact as a result of this substance is being used like a drug abuse, beside is involve in delinquent acts in our country. According to this way is reached a significant contribution to the chemical – toxicological analysis to Peru; because of, there is not previous studies. This technique will allow the determination of the presence of this new drug by using TLC and HPLC, thus improving the labor of institutions such as National Police and Ministry of People by having the certainly of the presence of GHB in biological fluids or goats. We used TLC because of the simplicity of this common analytical technique, beside it is easy to implement in toxicology laboratories, the best separation solvents and general and specific reveal reactivities were evaluated. We also utilized HPLC technique using an Xterra MS C18 column and MS ESI-UV detection system. Finally, we applied this analytical methodology in the urine of people who were taken to DIRCRI for a toxicological test.

**KEYWORDS :** Gamma hydroxybutyrate (GHB), Thin Layer Chromatography (TLC), High Performance Liquid Chromatography (HPLC).



# I. INTRODUCCIÓN

El GHB es una nueva droga cuyo uso viene en incremento en el Perú como en el extranjero; es utilizada como una droga de abuso en las llamadas “fiestas electrónicas” en donde se le puede conseguir en forma de sal a precios similares a los del éxtasis. Asimismo, esta sustancia, por deprimir el sistema nervioso, es utilizada también para cometer actos delictivos como violaciones y robos. Debido a ello se le conoce en nuestro medio con el nombre popular de “El viola fácil” y desde su aparición los casos en los cuales se involucra la misma vienen en aumento.

La importancia de este trabajo radica en que se ofrece una técnica analítica sencilla para determinar la presencia de GHB en líquidos biológicos a través de la CCF y HPLC; análisis que tendrían que ser de rutina en las instituciones pertinentes como la Policía, Ministerio Público y Hospitales.

La presente investigación dilucida primero la posibilidad de determinar el GHB por CCF en líquidos biológicos ya que no existen estudios anteriores de este tipo, pues la tendencia mundial para investigación es el análisis instrumental como el HPLC o la cromatografía de gases.

El presente estudio realiza una investigación bibliográfica acerca de los aspectos del GHB como su toxicología, su química, su análisis, etc. Además, se describe la experimentación realizada para determinar los sistemas de solventes de separación por CCF y de los reveladores químicos para la identificación del GHB en líquidos biológicos. De manera similar, se determinó el GHB por HPLC por ser esta una técnica de gran sensibilidad y especificidad para corroborar lo obtenido por la CCF.

La técnica analítica desarrollada se aplicó en la Dirección de Criminalística de la Policía Nacional del Perú (DIRCRI), institución que nos permitió analizar muestras de los casos en los que la presencia de GHB era probable. Se analizaron 50 muestras en un periodo de 15 días restringiendo el análisis a casos de robos y violaciones entre otros.

### **HIPÓTESIS :**

El Gamma Hidroxibutirato es separado e identificado por CCF de la orina de personas consumidoras.

### **OBJETIVOS:**

#### **1. OBJETIVO GENERAL:**

Desarrollar una técnica analítica para la determinación de Gamma Hidroxibutirato en líquidos biológicos.

#### **2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS:**

2.1. Extraer e identificar el GHB por CCF.

2.2 Extraer e identificar el GHB por HPLC.

2.3 Extraer e identificar el GHB en orina.

2.4 Aplicar la técnica analítica desarrollada en personas conducidas a la Dirección de Criminalística de la Policía Nacional (DIRCRI).

## II. GENERALIDADES

### 2.1 HISTORIA

El Gamma Hidroxibutirato (GHB), fue sintetizado por primera vez como un agonista periférico del receptor del ácido gamma amino butírico (receptores GABA). En 1963, el GHB fue reportado como un componente endógeno del cerebro de los mamíferos; desde entonces, los investigadores han creído que el GHB es un neurotransmisor putativo puesto que aparentemente logra satisfacer los requerimientos necesarios para ser considerado como tal.<sup>1,34,43</sup>

El hecho que el GHB sea un componente endógeno se hizo mas evidente a través de investigaciones de un aparente error innato del metabolismo del GHB debido a la deficiencia en la enzima succínico semialdehído deshidrogenasa (SSADH). Esta deficiencia causa una acumulación del GHB endógeno, GABA y productos de la gamma-oxidación, produciendo problemas motores que incluyen: ataxia, hiporeflexia e inconciencia; además de otros problemas tales como: retardo mental, hipercinesia, psicosis entre otras manifestaciones neurológicas.<sup>2</sup> En algunos individuos afectados se ha podido determinar la acumulación de GHB en plasma hasta niveles mayores de 100mg/L;<sup>3</sup> normalmente el GHB no es detectable en plasma de individuos saludables.<sup>4</sup>

Debido a que el GHB podría ser administrado por vía periférica para inducir sueño,

estuvo siendo empleado clínicamente en Europa en preparados para anestesia. Como el GHB no tiene propiedades analgésicas, puede ser usado en combinación con analgésicos opiáceos. Su larga vida media (36 minutos) comparados con los nuevos agentes y su asociación con mioclonus redujeron su uso en la anestesia.<sup>49</sup>

## 2.2. USOS DEL GHB

Durante los años 80, el GHB fue vendido en “health food stores”, gimnasios, “fitness centers” y por la Internet. Se sostenía que el GHB ofrecía beneficios anabólicos estimulando la liberación de la hormona del crecimiento. Fue utilizado por físico culturistas y por “strength training”. Además fue promocionado como un tratamiento natural para combatir el insomnio y para inducir la pérdida de peso. Aparentemente, los efectos eufóricos del GHB fueron descubiertos también en este tiempo. A inicios de 1990 la Food and Drug Administration (FDA) se pronunció públicamente en contra del uso del GHB, desde entonces comenzó a ser una droga ilegal y peligrosa. Subsecuentemente su venta fue restringida en noviembre de 1990. Esto fue seguido por un reporte de 57 casos de sobredosis o reacciones adversas en nueve estados en los EEUU.<sup>50</sup>

El control de la venta de GHB por la FDA y su fuerte regulación en varios estados conllevó a un incremento en la síntesis ilegal de esta droga así como a la venta y uso de sus precursores, gamma-butirolactona (GBL) y 1,4-butanodiol (1,4-BD). Los productos que contenían estos componentes estuvieron rápidamente disponibles por medio de varias fuentes incluyendo la Internet. El GBL se vendió sin ninguna restricción e incluso para su adquisición se entregaba una guía con instrucciones para la síntesis hasta GHB. Sus dos análogos (GBL y 1,4-BD) son convertidos a GHB in vivo y su ingesta puede producir efectos clínicamente similares a los del GHB.

El GHB se convirtió entonces en una sustancia de abuso en los llamados “Raves” y comenzó a implicarse en un número creciente de casos de “asaltos sexuales”<sup>5</sup>; esto dió como resultado que se le conozca como la droga del “date rape” cuya traducción mas apropiada al español sería “el viola fácil”.

Diferentes estudios clínicos sobre la efectividad del GHB en el tratamiento de la narcolepsia<sup>6,7</sup> y la aprobación por la FDA hicieron posible la aparición de una formulación farmacéutica de GHB, conocida por su nombre genérico oficial, sodio oxibato, que se vendió como Xyrem. El GHB es actualmente vendido en Italia, Austria y Hungría como un fármaco para el tratamiento de la dependencia al alcohol<sup>8,9,10</sup> y bajo investigación en la dependencia a opiáceos.<sup>11,12</sup> El GHB es evaluado como un posible tratamiento contra el dolor y fatiga asociados a la fibromialgia.<sup>35</sup>

Finalmente, el GHB parece poseer algunos efectos beneficiosos en la resucitación como un protector de tejidos contra el daño en la hipoxia.<sup>13</sup> Diferentes usos potenciales terapéuticos del GHB se siguen investigando en otras partes del mundo.

## 2.3 PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS

La sal sódica de GHB tiene una fórmula molecular de  $C_4H_7NaO_3$  y un peso molecular de 126.09 mol. El número CAS para la sal sódica de GHB es 502-85-2.

El GHB parece tener usos no legítimos como un químico industrial. Interesantemente, el 1,4-butanodiol (1,4-BD) y el Gamma-butirolactona (BDL), dos moléculas precursoras son extensivamente usadas en la manufactura química. En el año 2001 el consumo industrial en los EEUU de 1,4-BD fue de 387 000 toneladas métricas. Los mayores usos de 1,4-BD son la síntesis de tetrahidrofurano, resinas de terftalato de polibutireno, GBL y polimetanos.

## 2.4 TOXICOCINÉTICA

### 2.4.1 Absorción

El GHB es absorbido desde el tracto gastrointestinal. En 8 voluntarios humanos, el GHB en dosis orales únicas de 12.5, 25 y 50 mg/kg en solución produjeron concentraciones pico en plasma en 25 min (rango de 20-30), 30 min (rango de 20-45) y 45 min (rango de 30-60) respectivamente.<sup>14</sup>

En un modelo de estudio cruzado, 4.5 o 9 gramos de GHB fueron administrados en dos dosis divididas iguales (2.25 y 4.5 g/dosis, respectivamente) en 24 voluntarios sanos. Las concentraciones pico en plasma fueron: 26.6 y 60.1mg/L después de 4.5g/dosis y 77.6 y 141.7mg/L después de 9 g/dosis. La absorción oral parece ser de capacidad limitada.<sup>15</sup>

### 2.4.2. Distribución

Las concentraciones pico séricas inicialmente disminuyen rápidamente, sugiriendo una distribución en tejidos y un modelo bicompartimental. Un estudio de dosis intravenosas en humanos sugiere un volumen de distribución de 0.4 L/kg en el primer compartimiento y 0.58 L/kg en el segundo.<sup>16</sup>

### 2.4.3. Metabolismo

En una serie de pacientes alcohol-dependientes que recibieron 25mg/kg cada 12 horas, un promedio de menos del 1% de la dosis de ingesta fue recuperado como droga sin cambio químico en orina, esto sugiere un metabolismo hepático extensivo.<sup>15</sup> El GHB es

oxidado a semialdehído succínico, luego hasta ácido succínico, el cual entra en el ciclo de Krebs; el último metabolito de GHB es por tal motivo, dióxido de carbono y agua.<sup>17</sup> GBL y 1,4-BD tienen dificultad para su conversión en GHB in vivo.<sup>18</sup> El metabolismo de 1,4-BD hacia GHB involucra a la enzima alcohol deshidrogenasa.

#### 2.4.4. Eliminación

---

Los estudios originales en la farmacocinética del GHB revelaron una eliminación de primer orden a bajas dosis pero de capacidad limitada (orden cero) a dosis altas. Estos resultados fueron replicados en estudios con humanos. En 36 voluntarios sanos, el GHB oral en una dosis de 4.5g mostró una vida media de eliminación de 34 minutos. La administración de 4.5 o 9g de GHB en dos dosis divididas iguales (2.25 y 4.5 g/dosis, respectivamente), separados por 4 horas en 24 voluntarios saludables resultaron en una vida media de eliminación de 35 y 50 minutos, respectivamente. Similarmente en una serie de 6 pacientes con narcolepsia que tomaron 2-3g/dosis de GHB disueltos en agua 4 horas antes, resultó en una vida media de eliminación de 53.0 minutos.

La conversión de la droga precursora 1,4-BD hasta GHB involucra a la enzima alcohol deshidrogenasa y, como el etanol, obedece a un metabolismo de orden cero a dosis que saturan a esta enzima. La excreción urinaria de GHB no metabolizado está en el rango de 1-5%, y menos si es excretado bajo condiciones de orina ácida.

## 2.5. EFECTOS CLÍNICOS

Durante estudios clínicos, dosis terapéuticas de GHB produjeron reacciones adversas que fueron generalmente menores y consistieron principalmente en desmayo, cefalea y náusea. Los usos recreacionales reportaron euforia, relajación, desinhibición y una libido incrementada; sin embargo las dosis no fueron especificadas.

Con una sobredosis, los efectos depresivos del sistema nervioso central son mucho mas evidentes, y la sedación, que puede ir desde el letargo hasta el coma han sido reportados. Otros efectos a nivel del sistema nervioso central incluyen nistagmus, miosis, ataxia, depresión respiratoria, apnea y mioclonus. Efectos adicionales incluyen vómito, hipotermia, bradicardia, fibrilación atrial e incontinencia anal y urinaria.<sup>19,16</sup> En algunos casos la hipotensión estuvo asociada con la ingesta concomitante de alcohol.<sup>19</sup> Efectos similares han sido reportados con GBL<sup>20</sup> y 1,4-BD.<sup>21</sup>

La interrupción abrupta en consumidores de GHB produjo síndrome de abstinencia. Esto ha sido también asociado con frecuencia al consumo de altas dosis diarias por varias semanas hasta tres años.<sup>22</sup> Los síntomas reportados incluían ansiedad, vértigo, confusión, insomnio, conducta paranoica, alucinaciones audiovisuales, psicosis, taquicardia e hipertensión.<sup>22,23</sup> El síndrome de abstinencia persistió por mas de 15 días. En el caso de una serie de 8 pacientes que padecían síndrome de abstinencia al GHB, un paciente murió en el día 13 de hospitalización; sin embargo, su relación con la



abstinencia al GHB permanece incierta.

Debido a que el 1,4-BD es también convertido in vivo a GHB, no nos debe sorprender que casos de abstinencia sean reportados consecuentes a la cesación del consumo de 1,4-BD.<sup>24</sup> La síntesis ilícita casera de gamma-butirolactona e hidróxido, vendidos juntos en kits, ha sido la fuente de numerosos casos de sobredosis de GHB. Además muchos casos de accidentes son reportados por una inapropiada manufactura desde estos.

## 2.6. RANGO DE TOXICIDAD

Trabajos recientes de GHB como anestésico demostraron niveles alterados de conciencia asociada con la siguiente concentración sérica:

- Mayor que 260 mg/L, los pacientes no dan respuesta al estímulo doloroso (comatosos).
- 156-260 mg/L, los pacientes permanecieron dormidos pero dieron respuesta.
- 52-156 mg/L, los pacientes exhibieron movimientos espontáneos con ocasionales aperturas de ojos.
- Menos que 52 mg/L, los pacientes despertaron.<sup>28,29</sup>

De acuerdo con estos hallazgos, 6 pacientes con narcolepsia que recibieron dosis terapéuticas de GHB (3g inicialmente repetidos 4 horas después; dosis total 26.4-52.4 mg/kg) produjeron concentraciones séricas pico de 62.8 y 91.2mg/l. En animales, la dosis letal es alrededor de 5 a 15 veces la dosis que induce a un coma. El etanol ha demostrado tener un significativo efecto sinérgico en la acción sedativa del GHB en ratas.

## 2.7. ADMINISTRACIÓN TERAPÉUTICAS

La concentración plasmática pico de la administración terapéutica de GHB ha sido medida en diferentes estudios. Pacientes que recibieron GHB en dosis de 25 y 50 mg/kg cada 12 horas para el tratamiento del alcoholismo y dependencia tuvieron concentraciones plasmáticas de 55 mg/L (rango 24-88) y 90 mg/L (rango 51-158),<sup>36</sup> respectivamente. En un estudio similar, en pacientes que recibieron 25 mg/kg dos veces al día se produjo una concentración plasmáticas de 54 mg/L (rango 24-88, N=10).<sup>15</sup> En este estudio el GHB no metabolizado que se recuperó de la orina fue menos que el 1%. En un estudio donde se involucran 6 pacientes que recibieron dosis de 2-3 gramos de GHB cuatro horas antes para el tratamiento de la narcolepsia, las concentraciones picos fueron de 62.8 y 91.2mg/L para cada dosis. El GHB en dosis terapéuticas altas como 50mg/Kg. produjeron síntomas de mareo y sueño profundo.<sup>14</sup>

## 2.8. SOBREDOSIS CON GHB

Las concentraciones séricas y en orina de grandes dosis de GHB se han reportado pero en número muy reducido. En un paciente comatoso admitido a emergencias la concentración sérica fue de 125 mg/L. El paciente tuvo una concomitante concentración sérica para etanol de 134 mg/dL, pero no fueron encontradas otras drogas presentes. Este paciente se recuperó sin secuelas.<sup>30</sup>

En otro paciente también comatoso se encontró una concentración sérica de GHB de 101 y 3 mg/L después de 1 y 5 horas de su presentación a emergencias respectivamente. Simultáneamente, las concentraciones en orina de GHB fueron de 141,000 y 857 mg/L. La presencia de alcohol y tóxicos en sangre fueron negativos. El paciente se recuperó completamente. A un paciente al que se le halló dormido en su auto, se le encontró una concentración en orina de GHB de 1975 mg/L después de 2 horas de ingerida una cantidad de GHB desconocida.<sup>31</sup>

Estos casos indican que las diferencias entre las concentraciones tóxicas y terapéuticas de GHB pueden ser muy pequeñas. La capacidad limitada de eliminación la cual ha sido demostrado experimentalmente, puede contribuir a la toxicidad cuando son ingeridas mas de la dosis terapéutica de GHB. También, mientras insignificantes cantidades de GHB son excretadas en la orina como consecuencia de una administración terapéutica, grandes cantidades son excretadas en consecuencia de grandes dosis.

## 2.9 TRATAMIENTO DE LA SOBREDOSIS CON GHB

Después de la ingestión por vía oral, el carbón activado podría ser hipotéticamente beneficioso para disminuir la exposición a la droga; sin embargo, la rápida absorción de GHB la hace una práctica poco eficaz, y el uso del carbón activado debe ser reservado cuando se sospecha de algunas otras drogas ingeridas con el GHB. Por otro lado estudios con animales indicaron que el antagonista para opiáceos, naloxona, inhibe algunos de los efectos centrales del GHB,<sup>25</sup> pero clínicamente parece inefectivo.<sup>16,26</sup> Similarmente el antagonista para benzodiazepinas, flumazenil, parece inefectivo para revertir la toxicidad inducida por GHB.<sup>16,26</sup> En contraste, la fisostigmina posee mucha utilidad al finalizar el efecto sedativo de GHB cuando es usado en anestesia. En una serie de 25 pacientes anestesiados con GHB y que recibieron 2mg de fisostigmina, el tiempo para despertar fue de 6.2 minutos. Reportes preliminares en pacientes con sobredosis de GHB que recibieron 2mg de fisostigmina produjeron resultados similares.<sup>26,27</sup> La bradicardia se ha tratado<sup>28</sup> con atropina; mientras que la psicosis asociada ha respondido al haloperidol.<sup>23</sup> Otro tratamiento en pacientes con sobredosis de GHB es solo sintomático. La intubación endotraqueal para la protección de vías aéreas y la posible ventilación en estos pacientes aun es controversial. La posibilidad de la ingesta

de otras sustancias siempre debe ser considerada; sin embargo, la decisión de intubar es mejor obviarla para dar tratamiento físico.

## 2.10 NIVELES DE GHB POST-MORTEM

Mientras que la determinación de la concentración post-mortem de GHB es de gran importancia medico-legal, estos resultados deben ser interpretados cautelosamente debido a que las concentraciones endógenas post-mortem<sup>4</sup> se elevan de manera significativa inmediatamente después de que ocurre la muerte.<sup>4</sup> No debe sorprender que estas concentraciones endógenas elevadas parecen sobreponerse a las concentraciones reportadas después de una sobredosis fatal de GHB. En otros estudios las concentraciones en sangre de GHB seguidas a sobredosis fatales fueron reportadas en un rango de 27-121 mg/L en 4 pacientes. Un muestreo aleatorio en muestras de sangre de 20 autopsias (que no ingirieron GHB) se encontraron concentraciones en sangre de GHB en el rango de 3.2-168 mg/L en 15 de ellos.<sup>4</sup> Debido a que las concentraciones en orina post-mortem permanecen relativamente inalteradas, se ha recomendado que las muestras de orina deben ser preferidas en la investigación de una sospecha de muerte relacionada al GHB. Sin embargo; estudios posteriores indican esto como algo inverosímil. El GHB urinario fue detectado en 12 de 13 casos fatales no relacionados en concentraciones que fluctúan desde 6-217mg/l.<sup>32</sup>

Es también motivo de preocupación que todos los análisis en sangre que contengan un buffer de ácido cítrico-citrato trisódico puede arrojar resultados falsos positivos para GHB.<sup>33</sup>

## 2.11. ASPECTOS LEGALES:

El Código Penal del Perú referido al Delito Contra la Seguridad Pública en su Sección II relacionado al Tráfico Ilícito de Drogas, estipula en el artículo 296 que este delito es penado con la privación de la libertad por un periodo no mayor de 15 años. Así mismo, hace notar que esta pena será modificada si el ejecutor del delito es funcionario público, educador, profesionales médicos, químicos farmacéuticos, odontólogos y similares; de la misma manera esta pena será modificada cuando el delito se realiza en algún centro donde laboran estos (art 297).<sup>42</sup>

En vista de que el GHB es una droga controlada en nuestro país, las personas en posesión ilícita de la misma estarían violando el artículo 298 donde se estipula una pena no menor de 2 años ni mayor de 8 tanto para la producción y comercialización de sustancias consideradas controladas.



## III. MATERIALES Y MÉTODOS

### 3.1. MUESTRAS

Las muestras para el análisis toxicológico estuvieron constituidas por comprimidos de GHB adquiridas en discotecas de la zona sur de Lima cuya concentración era desconocida; el GHB sintetizado a partir del estándar de gamma butirrolactona (99% pureza) adquirido de la empresa Aldrich en EEUU, y las muestras de orina de 50 personas sometidas a un examen toxicológico en la Dirección de Criminalística de la Policía Nacional (DIRCRI), esto durante un periodo comprendido entre el 1 y el 15 de julio del 2004.

### 3.2 .OBTENCIÓN DE GHB POR SÍNTESIS A PARTIR DE GAMMA BUTIROLACTONA.<sup>51,52,53,54</sup>

El de GHB fue sintetizado por el Dr. Cesar Fuertes Ruitón profesor en la cátedra de Química Orgánica de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos a partir de gamma-butirolactona (GBL 25g/mL y 99% pureza)

importada de laboratorios Aldrich por la empresa Mercantil SA. desde Los Estados Unidos. La síntesis consistió en la hidrólisis alcalina por granallas de hidróxido de sodio sobre la lactona en mención (un éster cíclico intramolecular) y cristalizada por alcohol etílico marca Baker (95% pureza) en un sistema de reflujo durante 2 horas. La reacción es equimolar y no existen subproductos contaminantes, además se obtiene un rendimiento de un 70% de GHB y un 15% de GBL. El método de síntesis señalado se puede resumir en la siguiente reacción:



### 3.3. DETERMINACIÓN DE GHB POR CCF.

#### 3.3.1. Reactivos.

---

Soporte cromatográfico fue el silicagel GF-254 preparado con agua destilada en una proporción de 1:2 p/p respectivamente en placas de 20x20 cm. Las placas fueron desecadas en una estufa a 60°C por 2 horas o a temperatura ambiente por 24 horas. Se utilizaron capilares estériles para la siembra de los estándares de GHB, fenobarbital, fenitoína, marihuana y cocaína; el número de siembra para estos fue de 5 a 10 veces.

#### 3.3.2. Selección de los sistemas de solventes.

---

Se ensayó con diversos sistemas de solventes variando en ellos su alcalinidad y su polaridad para lograr una elusión adecuada. Se seleccionó a dos sistemas que se mencionan a continuación:

- Metanol-acetona (50:50)
- 1-butanol-HCl-H<sub>2</sub>O (100:15:27)

#### 3.3.3. Selección de reveladores químicos.<sup>55</sup>

---

Durante la selección de los reveladores cromatográficos se ensayó de manera sistemática con aquellos que son utilizados de rutina en un análisis toxicológico; dentro de estos podemos mencionar por su importancia a los reactivos de Dragendorff, Lieben, Mandelino, cloruro de paladio, Marquis, ácido para amino benzoico (PABA), entre otros. Así mismo, se ensayó con reactivos más específicos tomando en cuenta sus cualidades para detectar grupos y radicales presentes en la molécula del GHB. Los reveladores para la CCF que reaccionaron positivamente con el GHB fueron los siguientes:

- Rojo de metilo (Merck qp) al 1% en agua.
- Tricloruro férrico (Merck qp) 5% + HCl (Sigma qp) 10% .
- Tricloruro férrico (Merck qp) 2% en HCl (Sigma qp) 0.5 N + Ferricianuro de potasio (Merck qp) 1% en agua.
- Glucosa - anilina (Sigma qp) 2% en butanol mas calor 120°C por 10 minutos.

## 3.4. DETERMINACIÓN DE GHB EN ORINA.

### 3.4.1. Determinación del solvente orgánico de extracción en orina.

En la determinación del solvente orgánico para extraer al GHB de una muestra de orina se tomó en cuenta la marcada solubilidad que presentaba esta sustancia en el sistema de solvente 1-butanol-HCL-Agua (100:15:27). Fue así, que se seleccionó al 1-butanol (Merck qp) como el solvente orgánico apropiado.

### 3.4.2. Obtención de los extractos orgánicos de orina.

Para realizar la extracción del GHB, se obtuvo la orina de dos voluntarios que ingirieron 1.0g y 1.5g de estándar de GHB cada uno con 500 mL de agua destilada una hora antes. Debido a que no existían antecedentes en la extracción de esta droga desde orina se procedió a la obtención de un extracto ácido (pH 3), un extracto alcalino (pH 9) y un extracto directo.

#### **Extracción ácida:**

Se tomaron 60mL de la orina en un vaso de precipitados de 250mL, se llevó hasta pH 3 con una solución de HCl 5% gota a gota, y verificada con papel indicador de pH. Esta solución ácida se trasvasó a una pera de decantación; luego se le añadió 5mL de 1-butanol (merck qp) ,fase orgánica. Mediante agitación vigorosa por 10 minutos y luego de un reposo de 20 minutos se obtuvo por decantación aproximadamente 5 mL de fase orgánica. La fase orgánica separada se recibió en un tubo de ensayo con tapa de jebes correctamente rotulado e inmediatamente refrigerado. Se repite la extracción con otros 5mL de 1-butanol, obteniendo 10 mL de este extracto al unirlo con el anterior.

#### **Extracción alcalina:**

Se tomaron 60mL de la orina en un vaso de precipitados de 250mL y se llevó a pH 9 con una solución de amoníaco (merck qp) 5% gota a gota, y verificada por papel indicador de pH, luego se trasvasó a una pera de decantación. La muestra se trató de la misma manera que en la obtención del extracto anterior, con 2 volúmenes de 5 mL de 1-butanol cada uno y de esta forma se pudo obtener 10mL de extracto alcalino.

#### **Extracción Directa:**

Se tomaron 60 mL de orina en una pera de decantación a la que luego se le añadió 5mL de 1-butanol y después de repetir el mismo proceso de los extractos anteriores se logró obtener 10 mL de extracto directo de orina.

### **3.5. TÉCNICA ANALÍTICA PARA LA DETERMINACIÓN DE GHB EN ORINA POR CCF.**

La técnica para determinar GHB en orina sigue el orden siguiente: La placa cromatográfica eluida con metanol acetona 50:50 es revelada con Dragendorf; a las manchas de alcaloides, si las hubiesen, se les atomiza con nitrito de sodio (Merck qp)1% en HCL 1 N preparado al momento. Seguidamente se procede a revelar con rojo de metilo 1% en agua destilada que si reacciona positivamente para el GHB se logrará una mancha amarillo verdosa. Para corroborar este resultado se debe disponer de una segunda placa con la misma muestra eluida, en esta, se practicará un revelado con tricloruro férrico 5% en HCl 10% y otro con glucosa-anilina 2% en butanol obteniendo manchas de color naranja y blanca respectivamente.

### **3.6. DETERMINACIÓN DE GHB POR HPLC.**

#### **3.6.1 Reactivos.**

---

Se utilizó metanol grado HPLC (merck). El agua destilada fue preparada por un destilador Kottermann de 40lt. El GHB-Na que se inyectó fue obtenido por la síntesis mencionado anteriormente (apartado 3.2), el volumen de inyección fue de 10 microlitros. Finalmente, el estándar de GBL (99% pureza) utilizado fue adquirido a laboratorios Aldrich.

#### **3.6.2. Aparato.**

---

El sistema de cromatografía líquida consistió en un HPLC de la marca Waters, la columna Terra C-18 y un EMS-UV (Waters) como detector.

#### **3.6.3. Preparación de la muestra. 46**

---

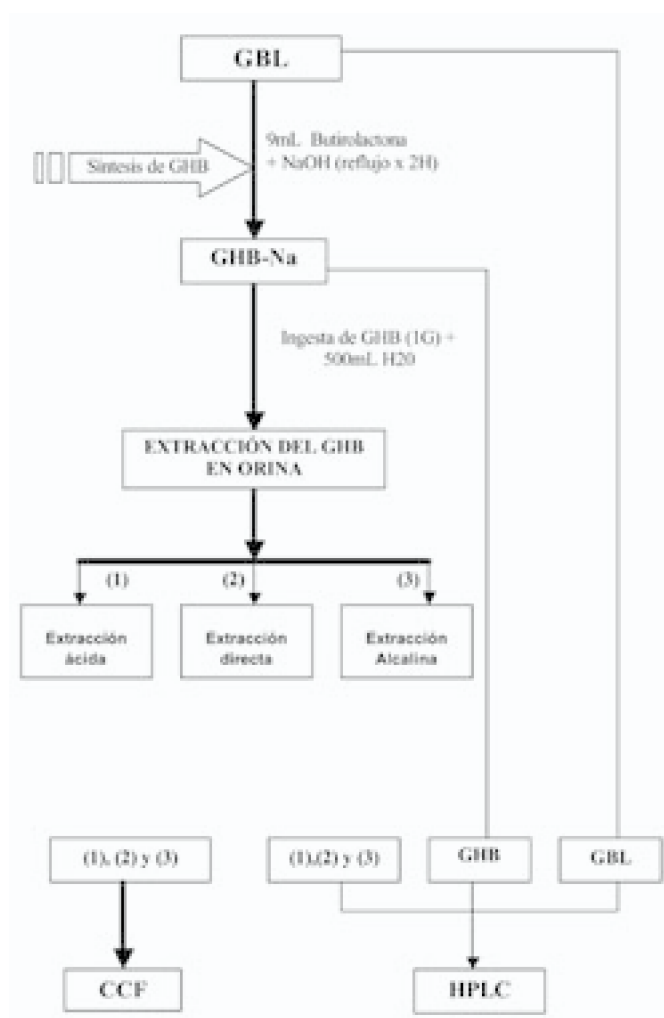
Se preparó el estándar de GHB-Na disolviendo 20mg de la sal en 4mL de metanol al 50% en agua. El estándar de GBL se preparó calculando un volumen que contenía 20mg de la lactona en 4mL de metanol al 50% en agua. Las muestras biológicas (extractos) se prepararon doblando su volumen con metanol al 50% en agua. Todas las muestras fueron mezcladas con la fase móvil 1 a 1 antes de la inyección.



### 3.6.4. Condiciones cromatográficas.

La fase móvil binaria consistió en 70% de buffer, 30% de metanol con un volumen de flujo de 1.0 mL/min. El buffer fue  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  10mM ajustado a pH 3 con  $\text{H}_3\text{PO}_4$ . El volumen de inyección fue de 10 microlitros para cada extracto y para los estándares de GHB y de GBL. La absorbancia del GHB y de su lactona fueron medidas a 215nm.

## 3.7 FLUJOGRAMA



## 3.8. APLICACIÓN DE LA TÉCNICA ANALÍTICA PARA

## **DETERMINAR GHB EN ORINA DE PERSONAS SOMETIDAS A UN EXAMEN TOXICOLOGICO POR LA DIRECCIÓN DE CRIMINALÍSTICA DE LA POLICÍA NACIONAL DEL PERÚ (DIRCRI).**

La técnica para la determinación de GHB en líquidos biológicos por CCF fue aplicado en 50 personas sometidas a un examen toxicológico en la DIRCRI durante el periodo comprendido entre el 1 y el 15 de julio del año 2004; la muestra consistió en orina recolectada en frascos transparentes con tapa de jebe. La probabilidad de encontrar GHB pudo incrementarse restringiendo el análisis solamente para muestras en las que cabía la sospecha del uso de una droga involucrada en un hecho delictivo; de esta manera, el análisis se dio para casos de asalto sexual (violaciones), detenidos por robo de vehículos, personas detenidas en estado de ebriedad los fines de semana, denunciante víctimas con amnesia y personas con sintomatología extraña.

### **3.9. ENCUESTA**

A cada una de estas personas sometidas a la examinación toxicológica se les pidió que llenaran una encuesta anónima cuyo formato se muestra en el anexo N° 1. Los resultados se muestran en el apartado 4.2.

## IV. RESULTADOS

### 4.1 RESULTADOS DE LA DETERMINACIÓN ANALÍTICA DE GHB.

En la determinación analítica de GHB en líquidos biológicos por CCF se encontró que:

1. El sistema de solventes adecuado para la CCF es el metanol:acetona (50:50) proporcionando un  $R_f$  de 0.61 con el GHB. Ver cuadro 1.

2. El solvente orgánico de extracción en orina es el 1-butanol. Ver apartado 3.4.1.

3. Son cuatro los reveladores químicos que reaccionan positivamente con el GHB, siendo estos:

- Rojo de metilo 1% en agua ..... Ver fig 1.
- Tricloruro férrico 5% + HCl 10%..... Ver fig 2.
- Tricloruro férrico 2% +
- Ferricianuro de potasio 1%..... Ver fig 3.
- Glucosa anilina 2% en butanol ..... Ver fig 4.

En la determinación analítica de GHB en líquidos biológicos por HPLC se determinó que:

a) Para la columna cromatográfica descrita en el apartado 3.5.2, el GHB presenta un tiempo de retención de 6.554 minutos. Ver figura 5.

b) El estándar de gamma butirrolactona presenta un tiempo de retención de 7.376 minutos. Ver figura 6.

c) El GHB encuentra en mayor cantidad en el extracto alcalino (Ver figura 7). Además, el extracto directo contiene más cantidad de GHB que el ácido. Ver figura 8 y 10.

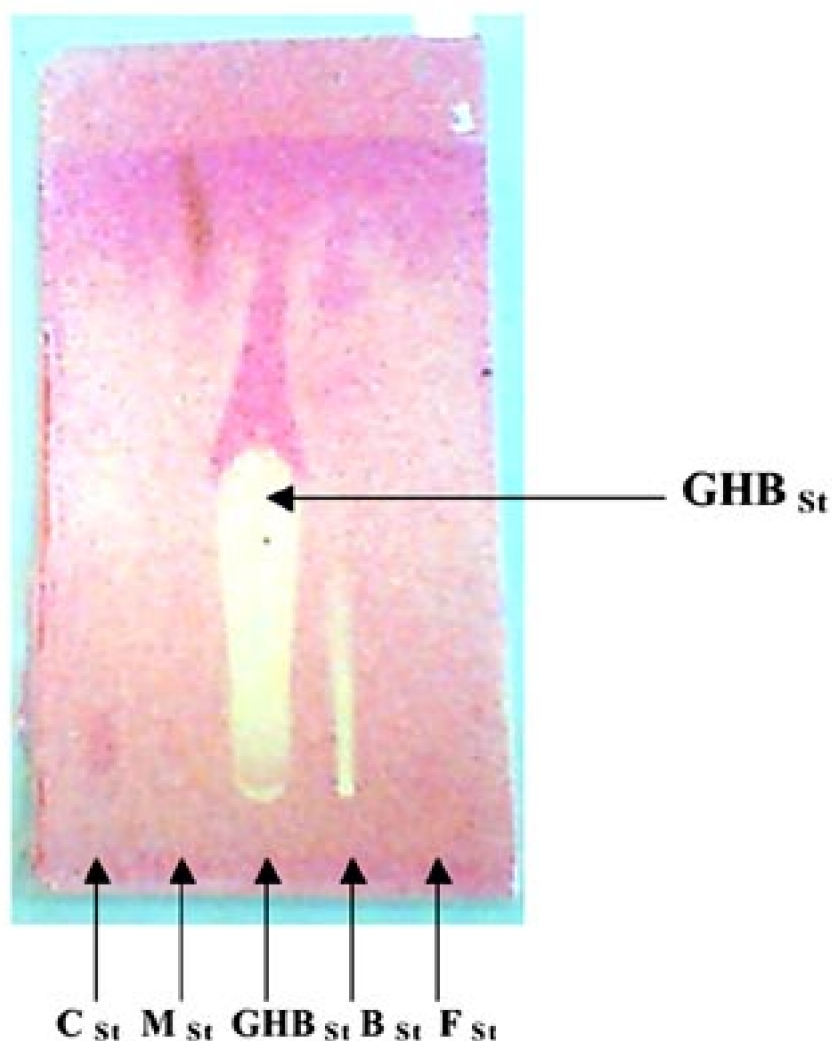
d) Los tiempos de retención del GHB preparado coinciden con los de los extractos orgánicos. Ver figuras 9 y 11. Los datos de las otras sustancias evaluadas se presentan en el cuadro 2.

**CUADRO 1. RESULTADOS DE LA C.C.F. EN LA DETERMINACIÓN DEL GHB. Sistema metanol : acetona (50:50)**

SUSTANCIA	Rf	Rojo de metilo	FeCl <sub>3</sub>	FeCl <sub>3</sub> Reforzado	Glucosa anilina
GHB	0.61	Amarillo verdoso	Naranja	Azul	Mancha blanca
COCAINA	0.45	Amarillo tenue	-	-	-
MARIHUANA	0.92	Verde	Verde	Verde	Verde
FENOBARBITAL	0.89	-	-	Azul	-
FENITOINA	0.88	-	-	Azul tenue	-

**CUADRO 2. RESULTADO DEL ANÁLISIS POR HPLC EN LA DETERMINACIÓN DEL GHB**

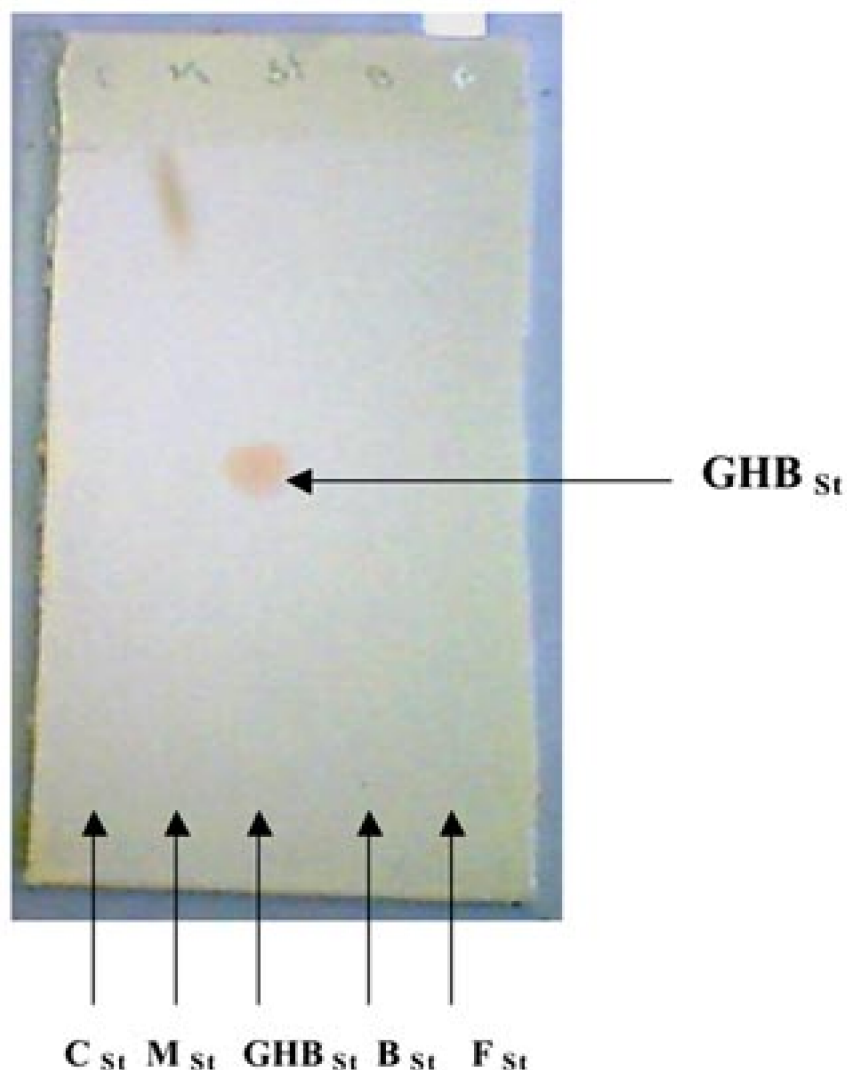
MUESTRA	Retention Time (min)	Area (microV*seg)	% Area	Height (microV)	% Height
GHB st	6,554	421258	100,00	30377	100,00
GBL st	7,376	8524880	100,00	611791	100,00
Extr Alcal	6,468	3033748	100,00	118897	100,00
Extr Acid	6,530	631400	100,00	40054	100,00
Extr Direct	6,448	2079870	100,00	115962	100,00



**FIGURA 1. CCF DE GHB FRENTE A OTRAS DROGAS REVELADAS CON ROJO DE METILO.**

El rojo de metilo reacciona con el GHB produciendo una mancha color amarilla verdosa. Reacciona ligeramente en la cocaína y la marihuana dando coloraciones amarillo tenue y verdosa respectivamente.

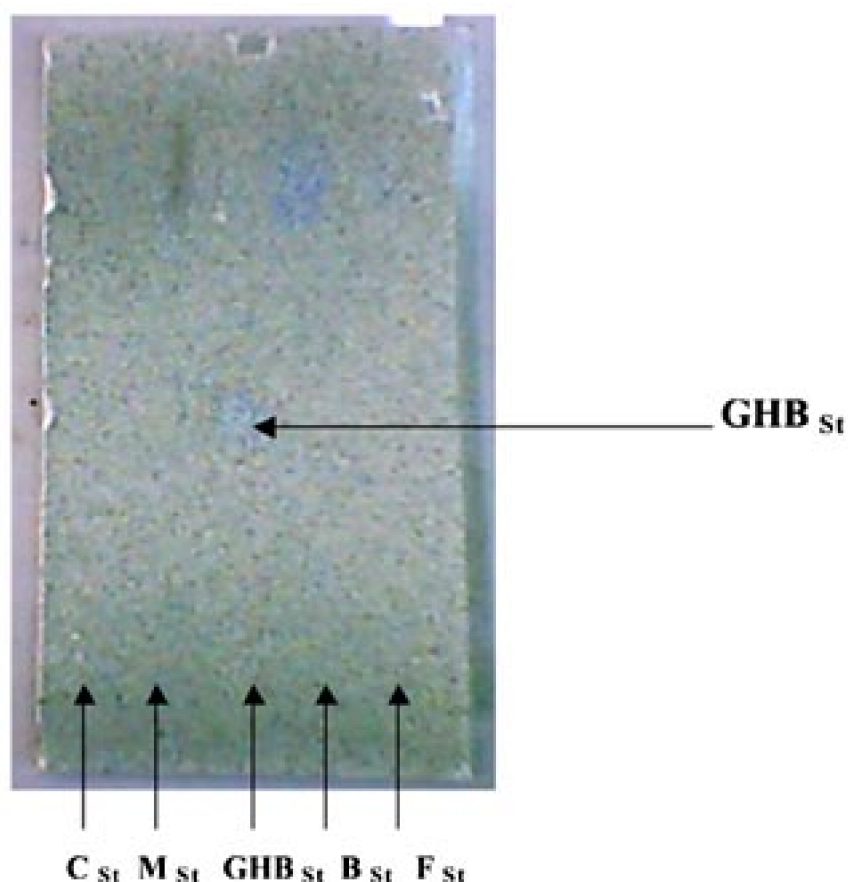
$C_{St}$  : Cocaína estándar,  $M_{St}$  : Marihuana estándar,  $GHB_{St}$  : GHB estándar,  $B_{St}$  : Barbitúricos estándar,  $F_{St}$  : Fenitoína estándar. Placa cromatográfica en silicagel GF – 254. Sistema de solventes : metanol: acetona (50:50). Revelador : rojo de metilo.  $R_f$  para el GHB : 0.61.



**FIGURA 2. CCF DE GHB FRENTE A OTRAS DROGAS REVELADAS CON TRICLORURO FÉRRICO.**

El Tricloruro férrico reacciona con el GHB produciendo una mancha color anaranjada. Reacciona también en la marihuana con una coloración verdosa.

C<sub>St</sub> : Cocaína estándar, M<sub>St</sub> : Marihuana estándar, GHB<sub>St</sub> : GHB estándar, B<sub>St</sub> : Barbitúricos estándar, F<sub>St</sub> : Fenitoína estándar. Placa cromatográfica en silicagel GF – 254. Sistema de solventes : metanol: acetona (50:50). Revelador : Tricloruro férrico. R<sub>f</sub> para el GHB : 0.61.



**FIGURA 3. CCF DE GHB FRENTE A OTRAS DROGAS REVELADAS CON TRICLORURO FÉRRICO REFORZADO .**

El Tricloruro férrico reforzado reacciona con el GHB produciendo una mancha azul. Reacciona también en la marihuana con una color verde; y en los barbitúricos y fenitoína con un color azul.

$C_{St}$  : Cocaína estándar,  $M_{St}$  : Marihuana estándar,  $GHB_{St}$  : GHB estándar,  $B_{St}$  : Barbitúricos estándar,  $F_{St}$  : Fenitoína estándar. Placa cromatográfica en silicagel GF – 254. Sistema de solventes : metanol: acetona (50:50). Revelador : Tricloruro férrico reforzado con ferricianuro de potasio. Rf para el GHB : 0.61.

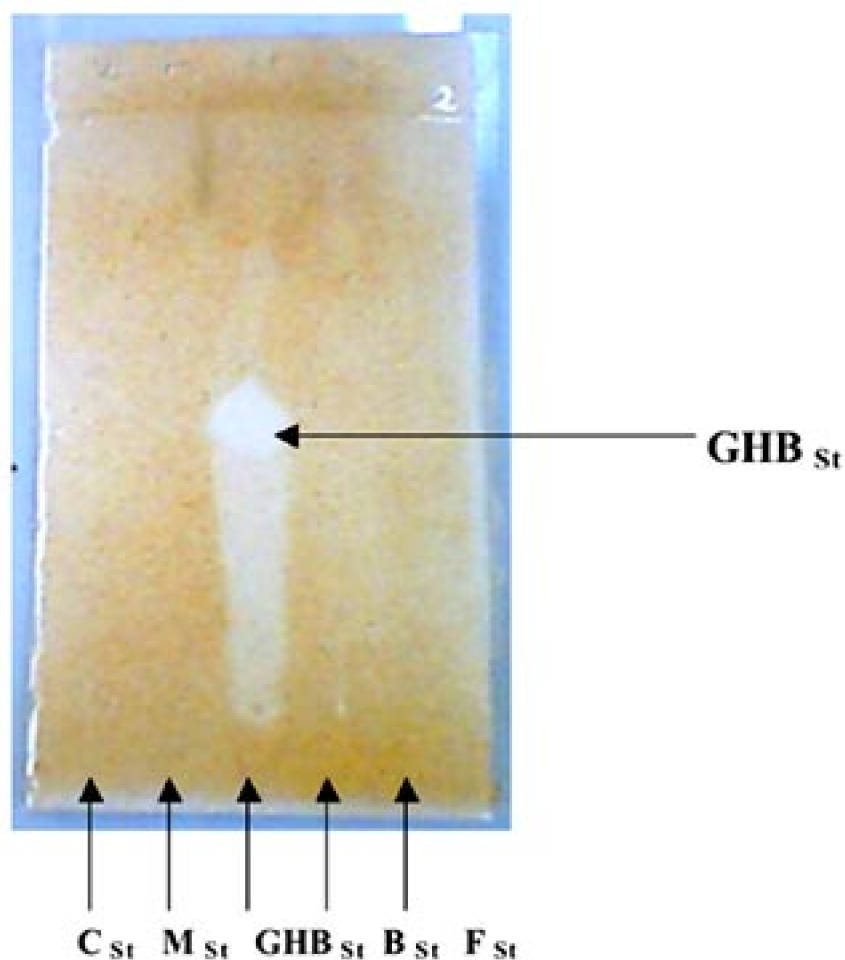


FIGURA 4. CCF DE GHB FRENTE A OTRAS DROGAS REVELADAS CON GLUCOSA – ANILINA + CALOR 120°C x 10 min.

La glucosa – anilina con el GHB produciendo una mancha blanca nítida. Reacciona también en la marihuana con un color verde.

C<sub>St</sub> : Cocaína estándar, M<sub>St</sub> : Marihuana estándar, GHB<sub>St</sub> : GHB estándar, B<sub>St</sub> : Barbitúricos estándar, F<sub>St</sub> : Fenitoína estándar. Placa cromatográfica en silicagel GF – 254. Sistema de solventes : metanol: acetona (50:50). Revelador :Glucosa-anilina + calor 120°C x 10 minutos. R<sub>f</sub> para el GHB : 0.61.

GRAFICO 5. ESTANDAR DE GAMMA HIDROXIBUTIRATO (GHB) LEIDO A 215 nm EN HPLC. El GHB presenta un tiempo de retención de 6.554 minutos. HPLC marca Waters, Columna Terra C-18. Detector EMS-UV (Waters). Volumen de inyección 10 microlitros.

**(CONSULTAR FORMATO IMPRESO)**

GRAFICO 6. ESTANDAR DE BUTIROLACTONA (GBL) LEIDO A 215 nm EN HPLC. La gamma butirolactona presenta un tiempo de retención de 7.376 minutos.

HPLC marca Waters, Columna Terra C-18. Detector EMS-UV (Waters). Volumen de inyección 10 microlitros.



**(CONSULTAR FORMATO IMPRESO)**

GRAFICO 7. EXTRACTO ALCALINO LEIDO EN HPLC A 215 nm El extracto orgánico alcalino de orina presenta un tiempo de retención de 6.468. HPLC marca Waters, Columna Terra C-18. Detector EMS-UV (Waters). Volumen de inyección 10 microlitros.

**(CONSULTAR FORMATO IMPRESO)**

GRAFICO 8. EXTRACTO ACIDO LEIDO EN HPLC A 215 nm El extracto orgánico ácido de orina presenta un tiempo de retención de 6.530 minutos.

HPLC marca Waters, Columna Terra C-18. Detector EMS-UV (Waters). Volumen de inyección 10 microlitros.

**(CONSULTAR FORMATO IMPRESO)**

GRAFICO 9. EXTRACTO ALCALINO vs ESTANDAR DE GHB LEIDO A 215 nm EN HPLC. El extracto orgánico alcalino y el GHB estándar presentan similares lecturas en el HPLC. Rf GHB estándar 6.554 minutos, Rf extracto alcalino 6.468 minutos. HPLC marca Waters, Columna Terra C-18. Detector EMS-UV (Waters). Volumen de inyección 10 microlitros.

**(CONSULTAR FORMATO IMPRESO)**

GRAFICO 10. EXTRACTO DIRECTO LEIDO EN HPLC A 215 nm. El extracto orgánico directo de orina presenta un tiempo de retención 6.448 minutos. HPLC marca Waters, Columna Terra C-18. Detector EMS-UV (Waters). Volumen de inyección 10 microlitros.

**(CONSULTAR FORMATO IMPRESO)**

GRAFICO 11. ESTANDAR DE GHB Y EXTRACTOS ALCALINO, ÁCIDO Y DIRECTO LEIDOS A 215 nm EN HPLC. Las lecturas de los extractos alcalino, ácido y directo superpuestas con el GHB estándar. HPLC marca Waters, Columna Terra C-18. Detector EMS-UV (Waters).

**(CONSULTAR FORMATO IMPRESO)**

## **4.2 RESULTADOS DE LA ENCUESTA EN 50 PERSONAS EVALUADAS TOXICOLÓGICAMENTE POR LA DIRECCIÓN DE CRIMINALÍSTICA DE LA POLICÍA NACIONAL DEL PERÚ (DIRCRI).**

**CUADRO N° 3. DISTRIBUCIÓN POR GRUPO ETÁREO DE LAS PERSONAS CONducIDAS A LA DIRECCIÓN CRIMINALÍSTICA (DIRCRI).N° DE CASOS 50 : JULIO DEL 2004**

AÑOS	HOMBRES	%	MUJERES	%	TOTAL DE MUESTRAS	%
16 - 20	13	28.8	0	0	13	26
21 - 25	8	17.7	2	40	10	20
26 - 30	7	15.5	2	40	9	18
31 - 35	6	13.3	0	0	6	12
36 - 40	5	11.1	1	20	6	12
41 - 45	2	2.6	0	0	2	4
46 - 50	4	5.2	0	0	4	8
51 - 55	0	0	0	0	0	0
56 - 60	0	0	0	0	0	0
TOTAL	45	100%	5	100%	50	100%

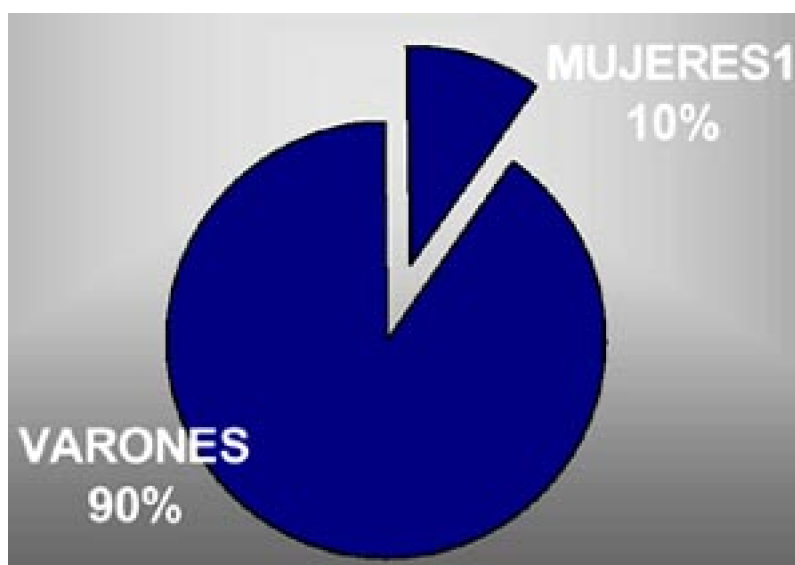


FIGURA 12-A. DISTRIBUCIÓN POR SEXO DE LAS PERSONAS ENCUESTADAS LLEVADAS A LA DIRCRI. N° DE CASOS 50 : JULIO 2004

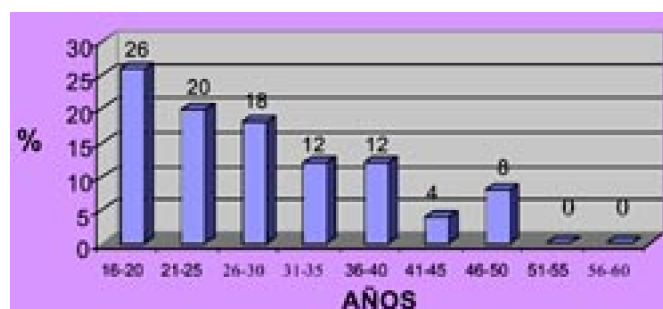


FIGURA 12-B. DISTRIBUCION ETAREA DE LAS PERSONAS ENCUESTADAS LLEVADAS A LA DIRCRI. N° de casos 50 : julio 2004

CUADRO N° 4. DISTRIBUCION SEGÚN EL ESTADO CIVIL DE LAS PERSONAS CONDUCTIDAS A LA DIRECCION CRIMINALISTICA (DIRCRI) N° DE CASOS 50 : JULIO DEL 2004

ESTADO	MASCULINO	%	FEMENINO N° DE	%	TOTAL DE	%
--------	-----------	---	----------------	---	----------	---

CIVIL	Nº DE CASO		CASO		MUESTRA	
Soltero	19	42.2	4	80	23	46
Casado	12	26.6	0	0	12	24
Conviviente	13	28.8	1	20	14	28
Divorciado	1	2.2	0	0	1	2
TOTAL	45	100%	5	100	50	100%

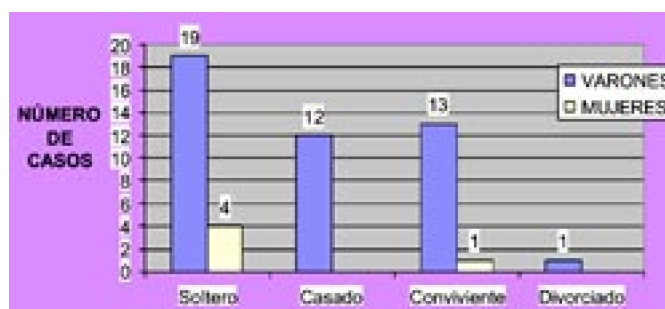


FIGURA 13. DISTRIBUCIÓN DEL NUMERO DE ENCUESTADOS LLEVADOS A LA DIRCRI SEGÚN SU ESTADO CIVIL Y SEXO. Nº DE CASOS 50 : JULIO DEL 2004

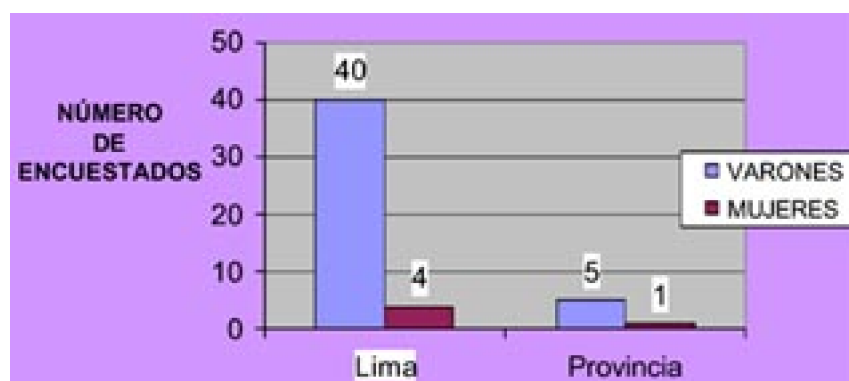


FIGURA 14. DISTRIBUCIÓN DEL NUMERO DE ENCUESTADOS LLEVADOS A DIRCRI SEGÚN SU PROCEDENCIA Y SEXO. Nº DE CASOS 50 : JULIO DEL 2004

OCUPACIÓN ACTUAL	MASCULINO		FEMENINO		TOTAL	
	Nº DE CASOS	%	Nº DE CASOS	%	Nº DE CASOS	%
Comerciante	3	6.6	1	20	23	8
Construcción	2	4.4	0	0	2	4
Policia	6	13.3	1	20	7	14
Auxiliar	5	11.1	0	0	5	10
Profesional	2	4.4	0	0	2	4
Técnicos	6	13.3	1	20	7	14
Chefer	8	17.7	0	0	8	16
Desempleado	13	28.8	2	40	15	30
TOTAL	45	100%	5	100%	50	100%

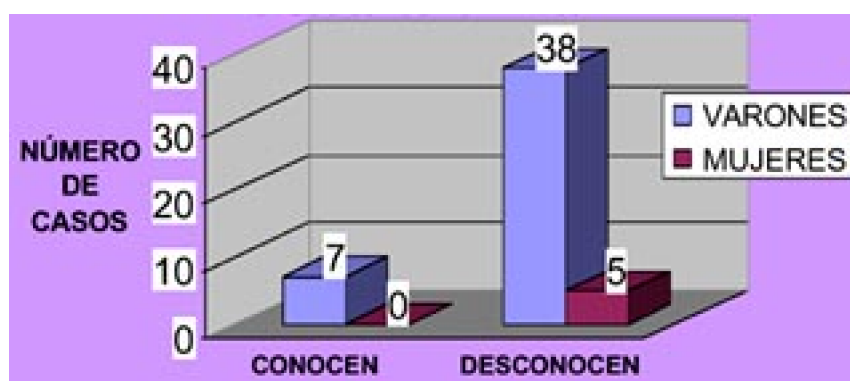
CUADRO Nº 5. DISTRIBUCIÓN DE ACUERDO A LA OCUPACIÓN DE LAS PERSONAS CONducidas A LA DIRECCION CRIMINALISTICA (DIRCRI) Nº DE CASOS 50 : JULIO DEL 2004

CUADRO Nº 6. DISTRIBUCION DEL CONSUMO DE DROGAS DE LAS PERSONAS CONducidas A LA DIRECCION CRIMINALISTICA (DIRCRI) Nº DE CASOS 50 : JULIO DEL 2004

CONSUMO DE DROGAS	MASCULINO N° DE CASOS	%	FEMENINO N° DE CASOS	%	TOTAL N° DE CASOS	%
Si	24	53	3	60	27	54
No	21	47	2	40	23	46
TOTAL	45	100%	5	100%	50	100%

**CUADRO N° 7. DISTRIBUCION SEGÚN LA FRECUENCIA DE CONSUMO DE DROGAS POR LAS PERSONAS CONDUCTIDAS A LA DIRECCION CRIMINALISTICA (DIRDRI) N° DE CASOS 50 : JULIO DEL 2004**

FRECUENCIA DE USO	MASCULINO N° DE CASO	%	FEMENINO N° DE CASO	%	TOTAL DE MUESTRA	%
NO USA	12	26.6	1	20	13	26
FRECUENTE	4	8.8	0	0	4	8
ESPORÁDICO	29	64.4	4	80	33	66
TOTAL	45	100%	5	100%	50	100%



**FIGURA 15. CONOCIMIENTO DEL GHB POR LAS PERSONAS LLEVADAS A LA DIRCRI SEGÚN SU NUMERO Y SEXO. N° DE CASOS 50 : JULIO DEL 2004**

**CUADRO N° 8. DISTRIBUCION DE ACUERDO AL TIPO DE DROGA CONSUMIDA POR LAS PERSONAS CONDUCTIDAS A LA DIRECCION CRIMINALISTICA (DIRCRI) N° DE CASOS 50 : JULIO DEL 2004**

CONSUMO DE DROGAS	TOTAL	%
Café	21	22.5
Cigarrillos	13	13.9
Alcohol	21	22.5
Opio	0	0
Éxtasis	0	0
Cocaína	19	20.43
Marihuana	19	20.43
Morfina	0	0
GHB	0	0
TOTAL	93	100%

**CUADRO N° 9. DISTRIBUCION SEGÚN EL CONSUMO DE MEZCLA DE DROGAS POR LAS PERSONAS CONDUCTIDAS A LA DIRECCION DE CRIMINALISTICA (DIRCRI) N° DE CASOS 50 : JULIO DEL 2004**

MEZCLA DE DROGAS	MASCULINO N° DE CASO	%	FEMENINO N° DE CASO	%	TOTAL DE MUESTRA	%
ALCOHOL, CAFÉ, CIGARRILLOS	21	46.6	2	40	23	46
ALCOHOL, CAFÉ, MARIHUANA	7	15.5	1	20	8	16
CAFÉ, MARIHUANA, COCAÍNA	8	17.7	1	20	9	18
ALCOHOL, MARIHUANA, COCAÍNA	5	11.1	0	0	5	10
CAFÉ, ALCOHOL, COCAÍNA	1	8.8	1	20	5	10
TOTAL	45	100%	5	100%	50	100%



## V. DISCUSIÓN

La determinación analítica del GHB relacionada a la cromatografía de alta resolución (HPLC) hechas en el extranjero hicieron posible que se lograran datos importantes en la experimentación realizada en este estudio.<sup>46,47</sup> Los trabajos de investigación en mención afirman la posibilidad de detectar el GHB en fluidos biológicos, además de separarlo de su principal precursor (gamma butirrolactona) afirmaciones que se corroboran en el presente trabajo. Por otro lado, no existen referencias para la determinación cromatográfica de GHB por CCF lo cual suma importancia a la presente investigación por ser la pionera en su campo en nuestro país. Cabe mencionar que debido a la tendencia mundial del análisis toxicológico a los métodos instrumentales tampoco se encontraron estudios internacionales acerca de la CCF relacionada con el GHB.

El GHB es actualmente muy controlado en el Perú y en el extranjero por tal motivo su adquisición suele ser muy complicada; alternativamente a esto, la síntesis de GHB a partir de su precursor inmediato gamma butirrolactona es muy conocida y se pueden revisar artículos científicos relacionados a ello en la Internet que se registran desde 1929.<sup>51, 52, 53, 54</sup>

En la búsqueda de una técnica analítica para determinar GHB en líquidos biológicos por CCF se encontraron reveladores químicos capaces de identificar el GHB extraído de orina. Además, en la determinación por HPLC es importante destacar que el GHB se encuentra en mayor cantidad en los extractos alcalino y directo, esto último facilitará estudios posteriores pues este dato no se encuentra en la bibliografía consultada.

De los datos de la encuesta realizada en la Dirección de Criminalística se pueden destacar que un 86% de las personas sostienen no tener conocimiento alguno del GHB (Ver figura 15) y un 54% afirman consumir algún tipo de droga. Ver cuadro 6. Estas alarmantes estadísticas hacen necesario las investigaciones para desarrollar e implementar de manera inmediata métodos analíticos en la determinación de drogas que se ajusten a nuestra realidad.



## CONCLUSIONES

1. El GHB se extrae e identifica por CCF, siendo el sistema de solventes de separación el metanol : acetona (50:50) con los cuales se logra un  $R_f$  de 0.61. Los reveladores químicos capaces de reaccionar con él son:

- Rojo de metilo 1% en agua. Produce mancha color amarillo verdoso.
- Tricloruro férrico 5% en HCl 0.5 N. Produce mancha color naranja.
- Tricloruro férrico 5% en HCl 0.5N reforzado con ferricianuro de potasio 1% en agua. Produce mancha color azul.
- Glucosa-anilina 2% en butanol mas  $125^{\circ}\text{C}$ . Produce mancha blanca.

2. El GHB se extrae e identifica por HPLC, siendo la mejor fase móvil para el HPLC en una fase binaria constituida por un 70% de buffer y un 30% de metanol con un volumen de flujo de 1.0mL/min. El buffer fue de 10mM de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  ajustado a pH 3 con  $\text{H}_3\text{PO}_4$ . La longitud de onda adecuada de lectura es 215nm. El volumen de inyección de cada muestra fue de 10 microlitros.

3. El GHB puede extraerse e identificarse en orina por CCF y HPLC, siendo el 1-butanol el solvente orgánico de extracción en medio alcalino.



## RECOMENDACIONES

1. Se deben realizar campañas de prevención sobre los efectos nocivos del GHB.
2. Continuar con la investigación de GHB en líquidos biológicos en todas las personas que llegan a la DIRCRI o en las que se sospecha el consumo de drogas utilizando las técnicas cromatográficas determinadas.



---

## BIBLIOGRAFÍA

- Bessman, S. P. and Fishbein, W. N. Gamma-hydroxybutyrate: A new metabolite in the brain, *Federation of American Societies for Experimental Biology Journal* (1963) 22:334.
- Gibson, K. M., Hoffman, G. F., Hodson, A., Bottiglieri, T., and Jakobs C. 4-Hydroxybutyric acid and the clinical phenotype of succinic semialdehyde dehydrogenase deficiency, an inborn of GABA metabolism, *Neuropediatrics* (1998) 29:14-22.
- Jakobs, C., Kneer, J., Rating, D., and Hanefeld, F. 4-Hydroxybutyric aciduria: A new inborn error of metabolism II: Biochemical findings, *Journal of Inherited Metabolic Disease* (1984) 7 Suppl 1: 92-94.
- Fieler, E. L., Coleman, D. E., and Baslt, R. C. Gamma-hydroxybutyrate concentrations in pre- and postmortem blood and urine, *Clinical Chemistry* (1998) 44:692.
- ElSohly, M. A. and Salamone, S. J. Prevalence of drugs used in cases of alleged sexual assault, *Journal of Analytical Toxicology* (1999) 23:141-146
- Scharf, M., Brown, D., Woods, M., Brown, L., and Hirschowitz J. The effects and effectiveness of gamma-hydroxybutyrate in patients with narcolepsy, *Journal of Clinical Psychiatry* (1985) 46:222-225.
- Scrima, L., Hartman, P. G., Johnson, F. H., Thomas, E. E., and Hiller, F. C. The effects of gamma-hydroxybutyrate on the sleep of narcolepsy patients: A double-blind study, *Sleep* (1990) 13:479-490.

- Addolorato, G., Balducci, G., Capristo, E., Attilia, M. L., Taggi, F., Gasbarrini, G., and Ceccanti M. Gamma-hydroxybutyric acid (GHB) in the treatment of alcohol withdrawal syndrome: A randomized comparative study versus benzodiazepine, *Alcoholism, Clinical and Experimental Research* (1999) 23:1596-1604.
- Gallimberti, L., Ferri, M., Ferrara, S. D., Fadda, F., and Gessa, G. L. Gamma-hydroxybutyric acid in the treatment of alcohol dependence: A double-blind study, *Alcoholism, Clinical and Experimental Research* (1992) 16:673-676.
- Poldrugo, F. and Addolorato, G. The role of gamma-hydroxybutyric acid in the treatment of alcoholism: From animal to clinical studies, *Alcohol and Alcoholism* (1999) 34:15-24.
- Gallimberti, L., Cibir, M., Pagnin, P., Sabbion, R., Pani, P. P., Pirastu, R., Ferrara, S. D., and Gessa, G. L. Gamma-hydroxybutyric acid for treatment of opiate withdrawal syndrome, *Neuropsychopharmacology* (1993) 9:77-81.
- Gallimberti, L., Spella, M. R., Soncini, C. A., and Gessa, G. L. Gamma-hydroxybutyric acid in the treatment of alcohol and heroin dependence, *Alcohol* (2000) 20:257-262.
- Li, J., Stokes, S. A., and Woeckener, A. A tale of novel intoxication: A review of the effects of gamma-hydroxybutyric acid with recommendations for management, *Annals of Emergency Medicine* (1998) 31:729-736.
- Palatini, P., Tedeschi, L., Frison, G., Padriani, R., Zordan, R., Orlando, R., Gallimberti, L., Gessa, G. L., and Ferrara S. D. Dose-dependent absorption and elimination of gamma-hydroxybutyric acid in healthy volunteers, *European Journal of Clinical Pharmacology* (1993) 45:353-356.
- Ferrara, S. D., Zotti, S., Tedeschi, L., Frison, G., Castagna, F., Gallimberti, L., Gessa, G. L., and Palatini, P. Pharmacokinetics of gamma-hydroxybutyric acid in alcohol-dependent patients after single and repeated oral doses, *British Journal of Clinical Pharmacology* (1992) 34:231-235.
- Dyer, J. E. Gamma-hydroxybutyrate: A health-food product producing coma and seizure-like activity, *American Journal of Emergency Medicine* (1991) 9:321-324.
- Walkenstein, S. S., Wiser, R., Gudmunson, C., and Kimmel, H. Metabolism of gamma-hydroxybutyric acid, *Biochimica et Biophysica Acta* (1964) 86:640-642.
- Lettieri, J. and Fung, H. L. Improved pharmacological activity via pro-drug modification: Comparative pharmacokinetics of sodium gamma-hydroxybutyrate and gamma-butyrolactone, *Research Communications in Chemical Pathology and Pharmacology* (1978) 22:107-118.
- Chin, R. L., Sporer, K. A., Cullison, B., Dyer, J. E., and Wu, T. D. Clinical course of gamma-hydroxybutyrate overdose, *Annals of Emergency Medicine* (1998) 31:716-722.
- LoVecchio, F., Bagnasco, T., and Curry, S. C. Butyrolactone-induced central nervous system depression following ingestion of Renuit®<sup>®</sup>, an herbal "growth hormone", *Journal of Toxicology Clinical Toxicology* (1998) 36:503.
- Cisek, J., Holstege, C., and Rose, R. Seizure associated with butanediol ingestion, *Journal of Toxicology Clinical Toxicology* (1999) 37:650.
- Dyer, J. E. and Andrews, K. M. Gamma-hydroxybutyrate withdrawal, *Journal of*

- Toxicology Clinical Toxicology (1997) 35:553-554.
- Sanguinetti, V. R., Angelo, A., and Frank, M. R. GHB: A home brew, American Journal of Drug and Alcohol Abuse (1997) 23:637-642.
- Zvosec, D. L., Smith, S. W., McCutcheon, J. R., Spillane, J., Hall, B. J., and Peacock, E. A. Adverse events, including death, associated with the use of 1,4-butanediol, New England Journal of Medicine (2001) 344:87-94.
- Fiegenbaum, J. J. and Howard, S. G. Naloxone reverses the inhibitory effect of gamma-hydroxybutyrate on central DA release in vivo in awake animals: A microdialysis study, Neuroscience Letters (1997) 224:71-74.
- Yates, S. W. and Viera, A. J. Physostigmine in the treatment of gamma-hydroxybutyric acid overdose, Mayo Clinic Proceedings (2000) 75:401-402.
- Caldicott, D. G. E. and Kuhn, M. Gamma-hydroxybutyrate overdose and physostigmine: Teaching new tricks to an old drug? Annals of Emergency Medicine (2001) 37:99-102.
- Chin, R. L., Sporer, K. A., Cullison, B., Dyer, J. E., and Wu, T. D. Clinical course of gamma-hydroxybutyrate overdose, Annals of Emergency Medicine (1998) 31:716-722.
- Helrich, M., McAslan, T. C., Skolnik, S., and Bessman, S. P. Correlation of blood levels of 4-hydroxybutyrate with state of consciousness, Anesthesiology (1964) 25:771-774.
- Louagie, H. K., Verstraete, A. G., DeSoete, C. J., Baetens, D. G., and Calle, P. A. A sudden awakening from a near coma after combined intake of gamma-hydroxybutyric acid (GHB) and ethanol, Journal of Toxicology Clinical Toxicology (1997) 35:591-594.
- Stephens, B. G. and Baselt, R. C. Driving under the influence of GHB, Journal of Analytical Toxicology (1994) 18:357-358.
- Elliott, S. P. The presence of gamma-hydroxybutyric acid (GHB) in postmortem biological fluids, Journal of Analytical Toxicology (2001) 25:152.
- LeBeau, M. A., Montgomery, M. A., Jufer, R. A., and Miller, M. L. Elevated GHB in citrate-buffered blood, Journal of Analytical Toxicology (2000) 24:383-384.
- Vayer, P., Mandel, P., and Maitre, M. Gamma-hydroxybutyrate, a possible neurotransmitter, Life Sciences (1987) 41:1547-1557.
- Scharf, M. B., Hauck, M., Stover, R., McDannold, M., and Berkowitz, D. Effect of gamma-hydroxybutyrate on pain, fatigue, and the alpha sleep anomaly in patients with fibromyalgia: Preliminary report, Journal of Rheumatology (1998A) 25:1986-1990.
- Ferrara, S. D., Tedeschi, L., Frison, G., Castagna, F., Gallimberti, L., Giorgetti, R., Gessa, G. L., and Palatini, P. Therapeutic gamma-hydroxybutyric acid monitoring in plasma and urine by gas chromatography-mass spectrometry, Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis (1993) 11:483-487.
- Ing. Fritz Feigl .Pruebas a la gota en análisis orgánico. 1978. Editorial El Manual Moderno, S.A. México, D.F.
- S. Gibaja Oviedo. Guía para el análisis de los compuestos del carbono. Editorial San Marcos. 1977. Lima.

Goodman y Gilman; Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica. 9° ed. McGraw-Hill Interamericana 1998. México

Stryer, Lubert ; Bioquímica 3° Ed. Revert S.A. 1995. Barcelona.

Drug Enforcement Administration (DEA). Special Testing and Research Laboratory. DEA Resources, Microgram Journal, Volume 1, January-June 2003 1,4-Butanediol (BD) - Forensic Profile.

Código Penal del Perú. 2000.

Mamelak M. Gammahydroxybutyrate: an endogenous regulator of energy metabolism. Department of Psychiatry, Sunnybrook Medical Centre, University of Toronto, Ontario,. PUBMED online. Neurosci Biobehav Rev. 1989 Winter;13(4):187-98.

Yosunkaya A, Ustun ME, Bariskaner H, Tavlan A, Gurbilek M. Effect of gamma-hydroxybutyric acid on tissue Na,K-ATPase levels after experimental head trauma. Acta Anaesthesiol Scand. 2004 May;48(5):631-6.

Chen M, Andrenyak DM, Moody DE, Foltz RL. Stability of plasma gamma-hydroxybutyrate determined by gas chromatography-positive ion chemical ionization-mass spectrometry. J Anal Toxicol. 2003 Oct;27(7):445-8.

Mantai Z. Mesmer, Ph.D. and Duane Satzger, Ph.D. Determination of Gamma-Hydroxybutyrate (GHB) and Gamma-Butyrolactone (GBL) by HPLC/UV-VIS Spectrophotometry and HPLC/Thermospray Mass Spectrometry.

GHB and GBL in Human Urine. Esto disponible en <http://www.waters.com./waters.com./watersdivisión/waterswebsite/pdfs/lxtcps.pdf>.

GHB (Gamma-Hydroxybutyrate) Synthesis FAQ. Disponible en <http://www.rhodium.ws/chemistry/index.html>.

Li, J., Stokes, S. A., and Woeckener, A. A tale of novel intoxication: A review of the effects of gamma-hydroxybutyric acid with recommendations for management, Annals of Emergency Medicine (1998) 31:729-736.

Food and Drug Administration. FDA Re-issues warning on GHB. U.S. Department of Health and Human Services. Public Health Service 5600 Fishers Lane Rockville, MD 20857. February 18, 1997.

Marvel C.S., E.R. Birkhimer, The Preparation of the Sodium Salts of Omega hydroxybutyric. -Valeric and -Caproic acids. J. Am Chem Soc. 51, 260 (1929).

GHB (Gamma-Hydroxybutyrate) Synthesis FAQ by Rhodium. <http://www.rhodium.ws/chemistry/ghb.html#2>

<http://www.lycaeum.org/synthetics/ghb/>

<http://www.erowid.com/entheogens/ghb/ghb.html>

E.Merck, Darmstadt: Dyeing Reagents for Thin Layer and Paper Chromatography. Federal Republic of Germany. 1980



## ANEXO 1

ENCUESTA : EVALUACION QUIMICA TOXICOLOGICA DEL GAMMA  
HIDROXIBUTIRATO (GHB) Ó VIOLA FACIL EN PERSONAS EXAMINADAS EN LA  
DIRECCIÓN DE CRIMINALISTICA (DIRCRI)

**(CONSULTAR FORMATO IMPRESO)**